

# THE MOLECULAR TRIAD OPG/RANK/RANKL

involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling

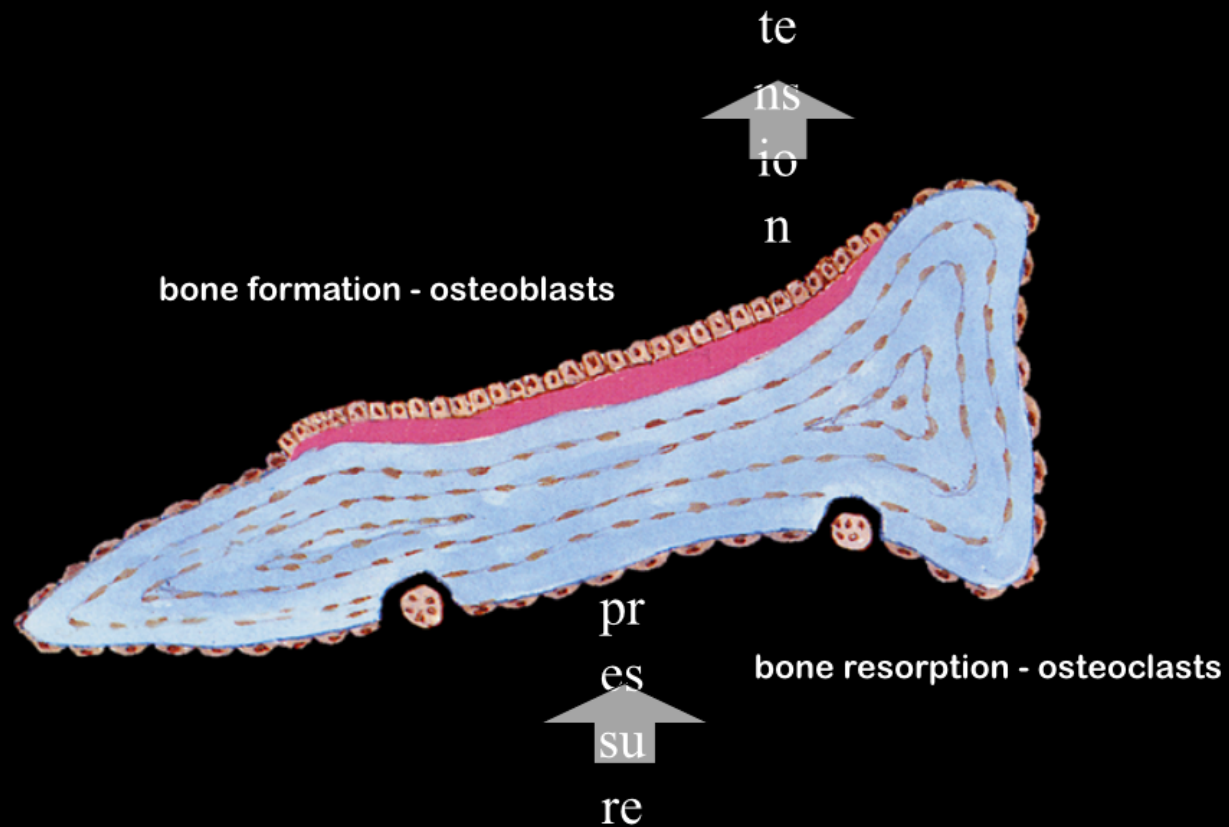
# INHALT

- Bone remodeling – Knochenstoffwechsel
- Beteiligte Zellen
- OPG/RANK/RANKL
- Involvierung in nicht-maligne Erkrankungen
- Involvierung in maligne Erkrankungen
- Aktuelle Therapieansätze

# BONE - REMODELING

lifelong physiologic turnover (formation & resorption)

HM Frost Curr Opin Orthop Rel Res 1997



# KNOCHEN

- Netzwerk aus **Osteozyten** in extrazelluläre Matrix eingelagert

30% **organisch**  
Kollagen Typ1  
„Elastizität“  
Mukopolysaccharide

45% **anorganisch**  
**Kalzium & Phosphat**  
Hydroxylapatit-Kristalle  
„Festigkeit“

25% H<sub>2</sub>O

Einlagerung von Hydroxylapatit  $\text{Ca}_5\{\text{OH}(\text{PO}_4)_3\}$

# Substantia **C o m p a c t a** KNOCHENRINDE

Kortikalis unmittelbar unterhalb des Periost

aus **Osteonen** aufgebaut

zur Längsrichtung der Diaphyse angeordnete Knochenzylinder

Querverbindung = **Volkman-Kanal**

# Substantia **S p o n g i o s a** TRABEKULÄR

Im „Inneren“ des Knochens;

Knochengewebe als schwammartiges System aus feinen Knochenbälkchen

(in Hohlräumen: **Knochenmark**)

„wie ein **Schwamm**, der **von festen Hülle umgeben** ist, konstruiert“

**Knochenbälkchen (Trabekel)** – Anpassung an Trajektionslinien

Trabekel „gefäßlos“ – Osteozyten per Diffusion aus Knochenmarksgefäßen ernährt

BARTL,Reiner(2011): *Osteoporose. Prävention - Diagnostik - Therapie*. Thieme. Stuttgart. S. 8ff.

# Substantia **C o m p a c t a** KNOCHENRINDE

Peripheres Skelett – Substantia compacta dominiert in Röhrenknochen

80% kortikal - 20% spongiös

# Substantia **S p o n g i o s a** TRABEKULÄR

Axiales Skelett – Substantia spongiosa dominiert in Cranium, Thorax, Wirbelsäule etc.

BARTL,Reiner(2011): *Osteoporose. Prävention - Diagnostik - Therapie*. Thieme. Stuttgart. S. 8ff.

# Substantia **C o m p a c t a** KNOCHENRINDE

Sehr dicht; **bis zu 90% kalzifiziert** – langsamer Umbau - Nur **2,5% jährlich**

# Substantia **S p o n g i o s a** TRABEKULÄR

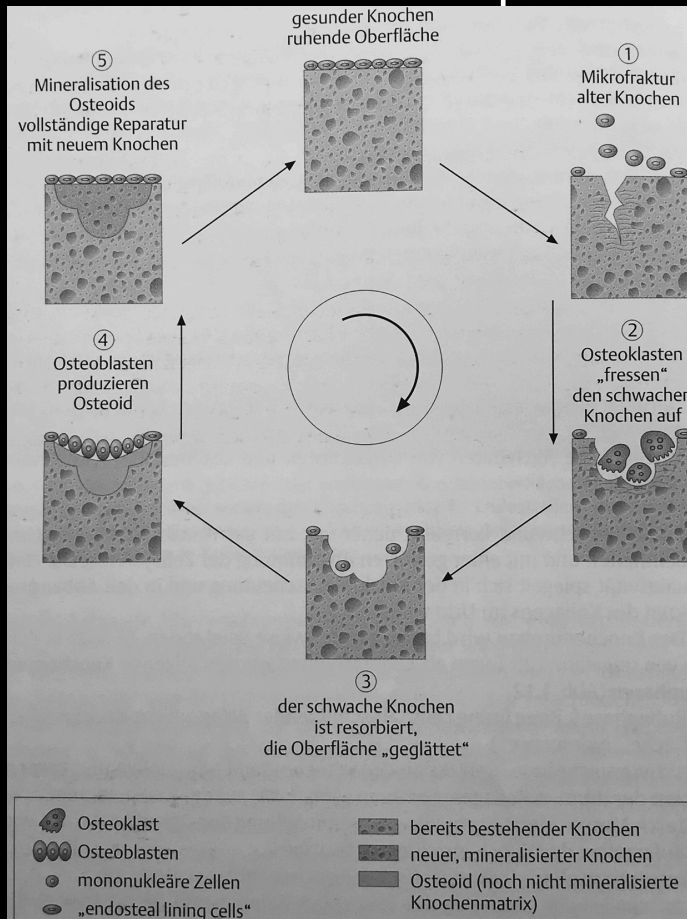
Durch **feingliedrige Anordnung**: größere Oberfläche, **schneller Umbau** – **25% jährlich**

**Knochenschwund manifestiert sich zuerst an Knochen mit hohem Anteil an Knochenbälkchen**

BARTL,Reiner(2011): *Osteoporose. Prävention - Diagnostik - Therapie*. Thieme. Stuttgart. S. 8ff.

# KNOCHENSTOFFWECHSEL

= Knochenresorption vs. Synthese von neuem Knochengewebe



## ZIELE DES BONE-REMODELING

Kalzium-mobilisation

Ersatz des alten Knochengewebes

Adaption an neue Belastungsanforderungen

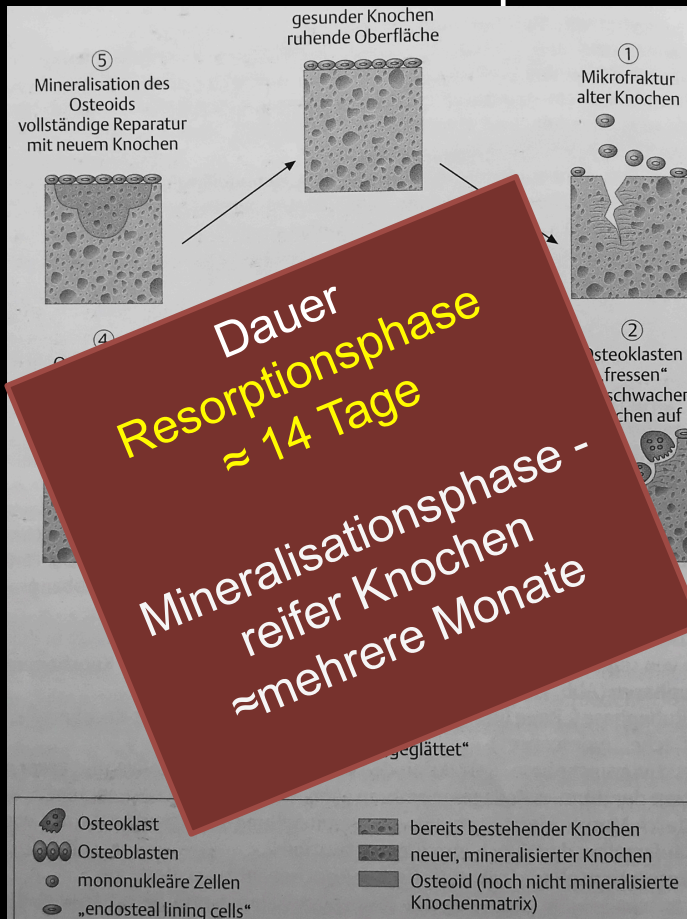
Reparatur von beschädigten Knochen

BARTL,Reiner(2011): *Osteoporose. Prävention - Diagnostik - Therapie*. Thieme. Stuttgart. S. 8ff.



# KNOCHENSTOFFWECHSEL

= Knochenresorption vs. Synthese von neuem Knochengewebe



## ZIELE DES BONE-REMODELING

Kalzium-mobilisation

Ersatz des alten Knochengewebes

Adaption an neue Belastungsanforderungen

Reparatur von beschädigten Knochen

BARTL,Reiner(2011): *Osteoporose. Prävention - Diagnostik - Therapie*. Thieme. Stuttgart. S. 8ff.

# Bone - Remodeling

Beteiligte Zellen

Osteoklasten  
(Osteolyse)

Osteoblasten  
(beteiligt an Aktivierung von Osteoklasten; Osteogenese)

*Bereits 1965 wurde durch Epker und Frost die Interaktion von Osteoklasten & Osteoblasten als notwendig für den Knochenstoffwechsel beschrieben.*

Aubin JE, Triffit JT(2002): *Mesenchymal stem cells and osteoclast differentiation*. Academic press;

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling*.

# KNOCHENSTOFFWECHSEL

## Osteoklasten

### Knochenresorption

leiten sich von **Monozyten** des Knochenmarks ab (Hämatopoese)

charakteristisch ist ihre stark gefaltete Zellmembran - „**ruffled border**“

Anlagerung an Knochenoberfläche

### Sezernierung von **proteolytischen Enzymen**

(in extrazellulären Raum zwischen ruffled border und Knochenoberfläche)

- **Auflösung** des **Knochenminerals**
- **Verdauung** der **organischen Matrix**

Rousselle AV, Heyman D(2002): *Osteoclastic acidification during bone resorption*. Bone. 30: 533-40

# KNOCHENSTOFFWECHSEL

## Osteoblasten

Entwickeln sich aus **mesenchymalen Stammzellen**

**Synthese von Knochenmatrix**

Kollagen Typ1, Osteokalzin, Osteonektin

**Kontrolle** der von Osteoklasten geleiteten **Knochenresorption**

**Involvierung** in **Differenzierungsprozess** der Osteoklasten

**Bestätigung durch Ko-Kultur**

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# KNOCHENSTOFFWECHSEL

## Steuerung durch

### Interzelluläre Kommunikation

### Hormone

Parathormon – Osteoklastenaktivierung vs. Kalzitinin – Osteoklastenhemmung

### Zytokine

IGF-1, IGF-2, IL-1, IL-6, TGF- $\beta$ , BMPs, FGFs, PDGF, Prostaglandine

**OPG – RANK - RANKL**

ZAIDI, Mone(2018): *Regulation of Skeletal Homeostasis*. Review. *Oxford Academic*.doi:10.1210/er.2018-00050

Takahashi N, Akatsu T et al(1998): *Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation*. *Endocrinology*. 123: 2600-2

# KNOCHENSTOFFWECHSEL

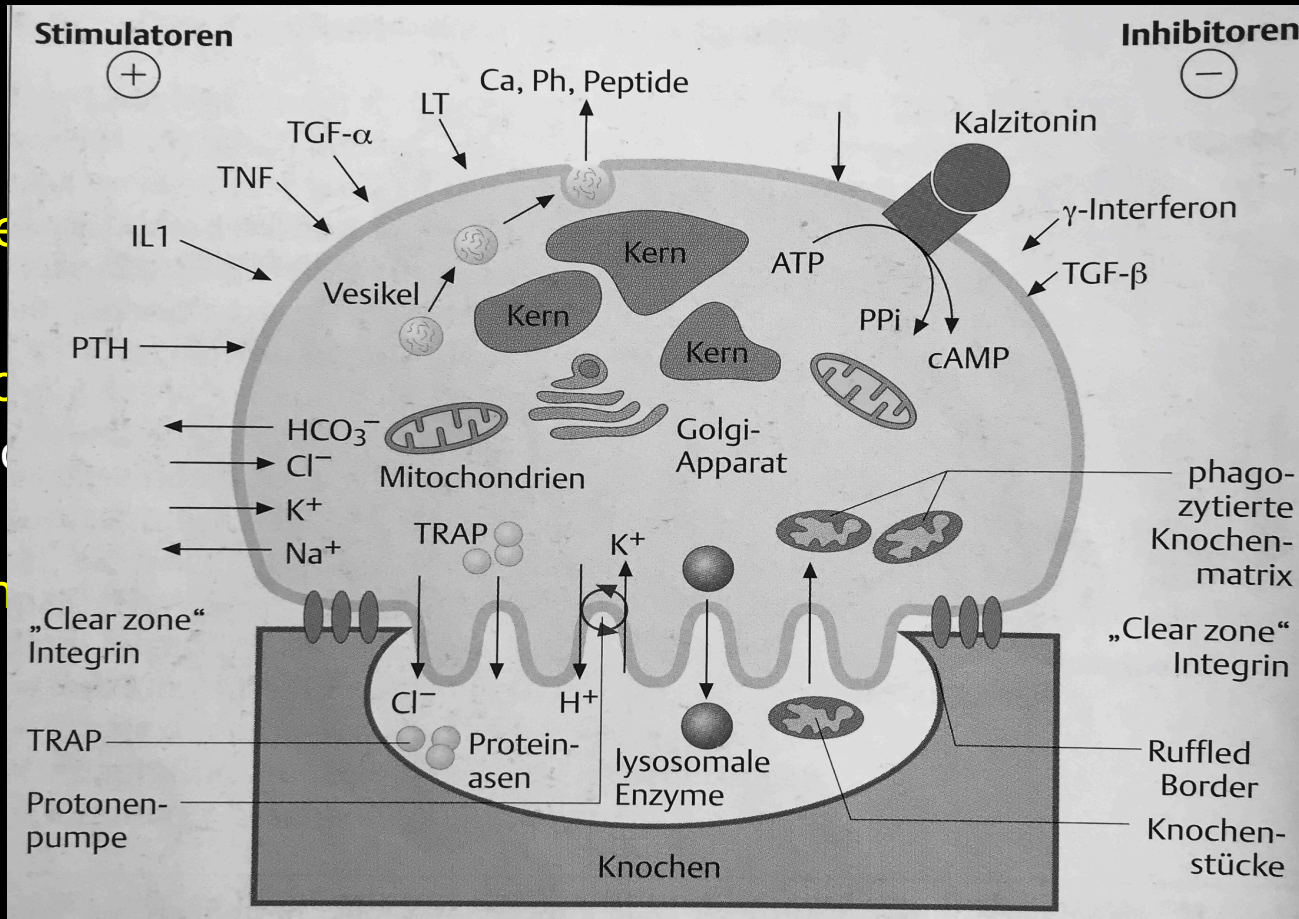
Interzele

Hormo

Parath

Zytokin

IGF-1,



phemung

e

ZAIDI, Mone(2018): *Regulation of Skeletal Homeostasis*. Review. *Oxford Academic*.doi:10.1210/er.2018-00050

Takahashi N, Akatsu T et al(1998): *Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation*. *Endocrinology*. 123: 2600-2

# KNOCHENSTOFFWECHSEL

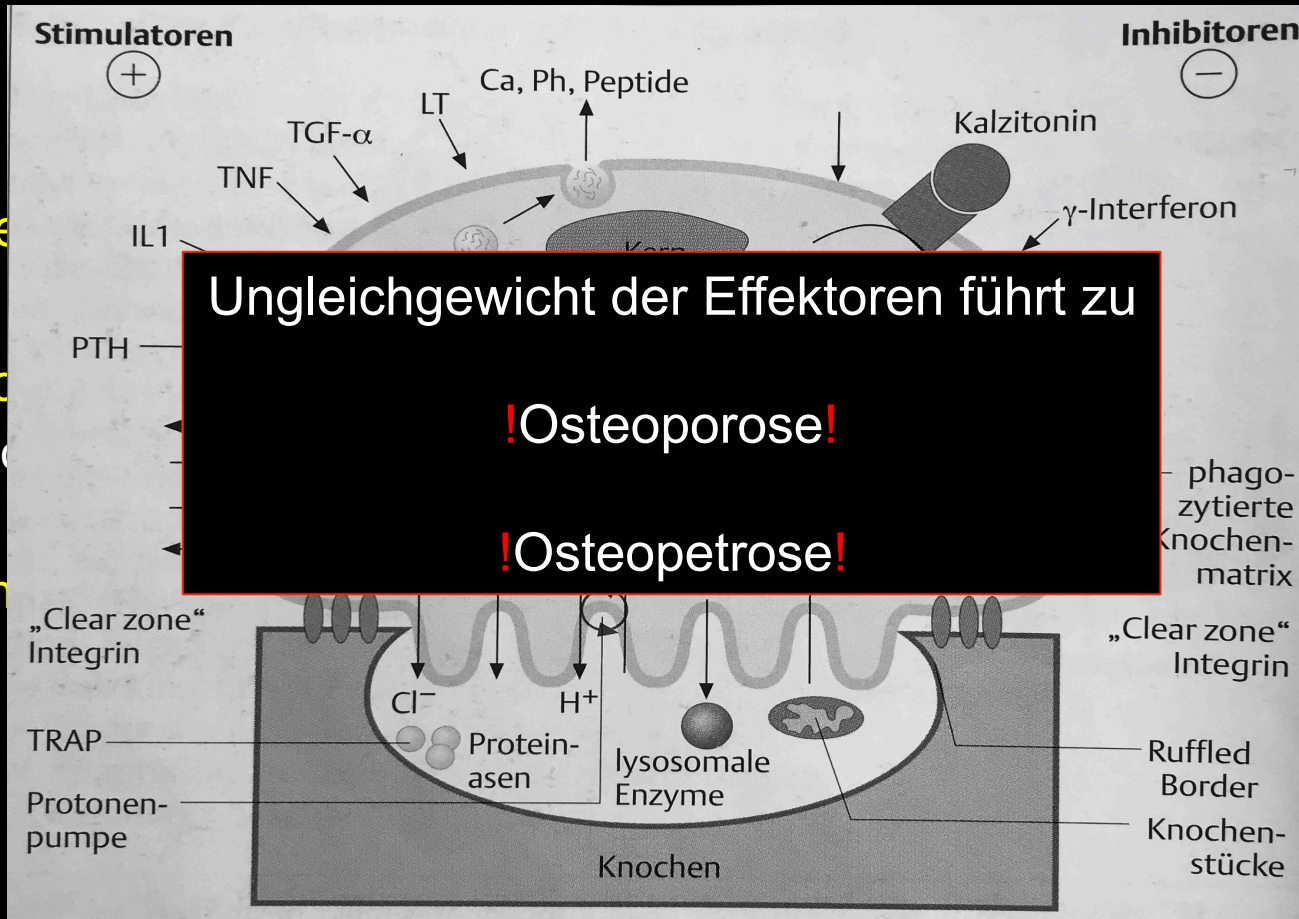
Interze

Hormo

Parath

Zytokin

IGF-1,



Ungleichgewicht der Effektoren führt zu  
**!Osteoporose!**  
**!Osteopetrose!**

Inhemmung

ZAIDI, Mone(2018): *Regulation of Skeletal Homeostasis*. Review. *Oxford Academic*.doi:10.1210/er.2018-00050

Takahashi N, Akatsu T et al(1998): *Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation*. *Endocrinology*. 123: 2600-2

# OPG – RANK - RANKL

Die Entdeckung von OPG war entscheidend für das Verständnis der  
**Osteoklastogenese**  
**Steuerung der Knochenresorption**

Experimente mit genetisch manipulierten Mäusen, die OPG überexprimieren zeigen dass:

- OPG die Knochenresorption durch **Blockade** der **Differenzierung von Osteoklasten** hemmt
- Diese Mäuse eine **Osteopetrose** = „Knochenüberschuss“ entwickeln

BARTL,Reiner(2011): *Osteoporose. Prävention - Diagnostik - Therapie*. Thieme. Stuttgart. S. 8ff.

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling*.



# OPG – RANK - RANKL

Nutzung von OPG zur Auffindung des „**Osteoclast differentiation factor**“

OPG-Ligand war ident zu **TRANCE** und **RANKL**

(TNF-related activation-induced cytokine und Receptor activator of NF- $\kappa$ B Ligand)

**Bildung** von **RANKL** durch **Osteoblasten** und **T-Lymphozyten**

RANKL weist **3 Isoformen** auf; (RANKL1 – RANKL2 – RANKL3)

**Differenzierung** & Fusion von mononukleären Osteoklasten-Vorstufen

**Aktivierung** & Erhöhung der Überlebensdauer

Mögliche Regulierung des Knochenstoffwechsels durch **multimere RANKL**-Komplexe

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

Bereits 1997:

Entdeckung des Rezeptors von RANKL durch Anderson et al.

RANK = Transmembran Protein

Auf Oberfläche von Osteoklasten exprimiert

Bindung von RANKL an RANK – Aktivierung des Osteoklasten

↑ Knochenresorption ↑

Simonet WS, Lacey DL et al.(1997): *Osteoprotegerin: a novel secret protein involved in the regulation of bone density.*

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

Bereits 1997:

Entdeckung des Rezeptors von RANKL durch Anderson et al.

RANK = Transmembran Protein

Auf Oberfläche von Osteoklasten exprimiert

Bindung von RANKL an RANK – Aktivierung des Osteoklasten

↑ Knochenresorption ↑

OPG führt zur Blockade der Knochenresorption:  
Verhindert Bindung von RANKL an RANK

Simonet WS, Lacey DL et al.(1997): *Osteoprotegerin: a novel secret protein involved in the regulation of bone density.*

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

Bestätigung des Einflusses der Triade auf Bone remodeling durch  
**Versuche mit genetisch manipulierten Mäusen:**

Mäuse mit **ineffizienter Bildung von OPG** zeigen:

einen Abfall in der Knochendichte

eine höhere **Frakturen-Inzidenz**

eine **Kalzifikation** von Aorta und Nierenarterien

Bucay N, Sarosi I et al.(1998): *Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification.*

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

Bestätigung des Einflusses der Triade auf Bone remodeling durch  
**Versuche mit genetisch manipulierten Mäusen:**

Mäuse mit **hepatischer Überexprimierung von OPG** zeigen:

Osteopetrose

Abfall der Osteoklasten-Differenzierung

Mäuse mit **einem „zerstörten RANKL-Gen“** zeigen:

Osteopetrose

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

Unerwartet:

Sterben von Neugeborenen aufgrund **unzureichend entwickelter Brustdrüsen**

Mögliche Beteiligung von RANKL an Lymphknoten-&Thymozytenentwicklung

Mangel in Lymphknotenentwicklung

Beeinträchtigung in Entwicklung von Thymozyten

**Interaktion von Knochen-& Immunzellen** herausgestrichen durch **invitro** Experiment:

Osteoklastogenese ↑

Kokultur von Knochenmarkszellen & CD4+T-Zellen

Osteoklastogenese ↓

Hinzufügen von OPG

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

Expression von OPG und RANKL von unterschiedlichen Mediatoren beeinflusst:

OPG – Produktion **erhöht** durch:

TGF- $\beta$

Östrogen

Statine

Bisphosphonate

Vitamin – K

OPG – Produktion **geschwächt** durch:

Glucocorticoide

Parathormon

Prostaglandin E<sub>2</sub>

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

Expression von OPG und RANKL von unterschiedlichen Mediatoren beeinflusst:

RANKL– Produktion **erhöht** durch: RANKL– Produktion **geschwächt** durch:

Prostglandin E<sub>2</sub>

IL - 13

**Parathormon**

RANKL & TNF - alpha

IL – 1, IL – 6, IL - 8

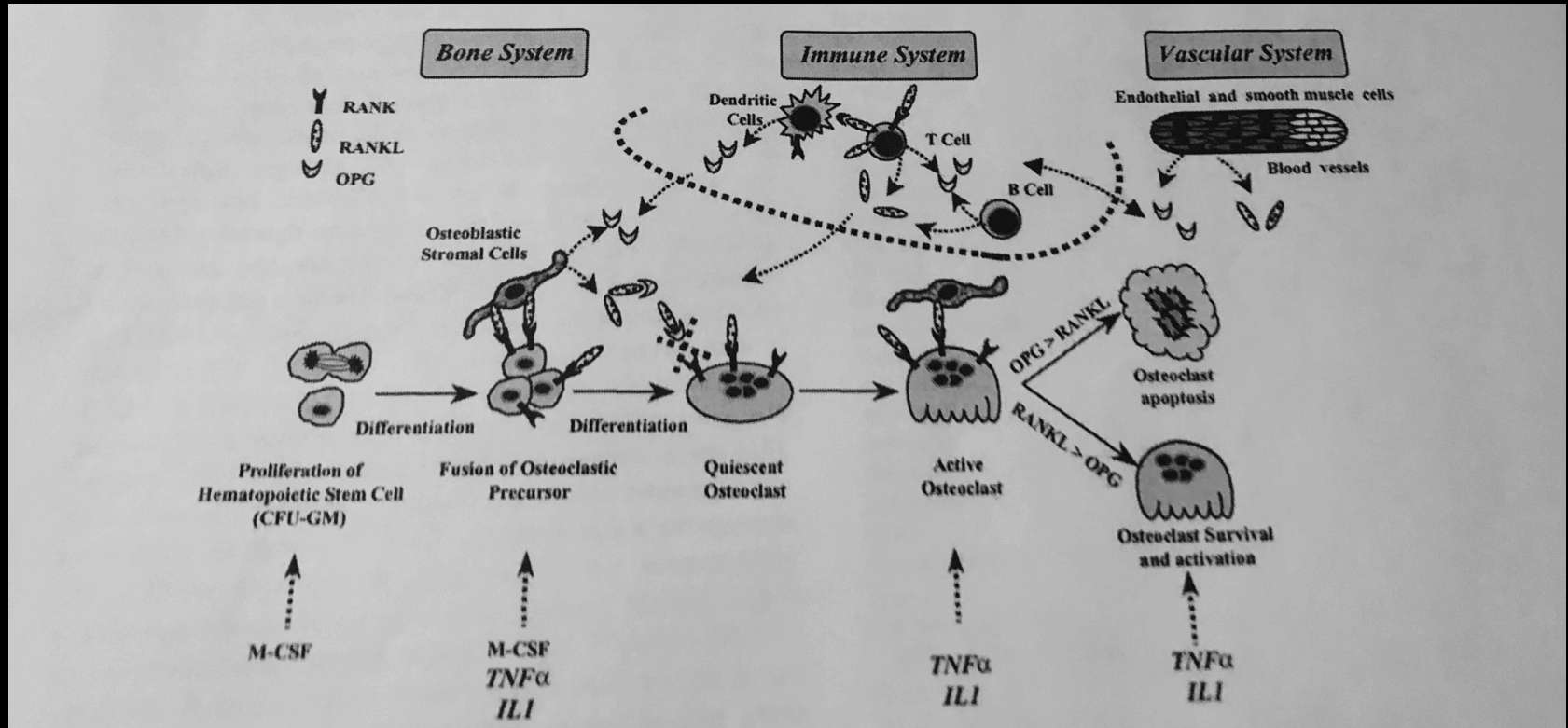
TNF – alpha/ TNF –  $\beta$

BARTL,Reiner(2011): *Osteoporose. Prävention - Diagnostik - Therapie*. Thieme. Stuttgart. S. 8ff.  
Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling*.



# OPG – RANK - RANKL

Bone remodeling vor allem über Beeinflussung der **Balance** von **OPG & RANKL** reguliert



Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

Beteiligung von OPG – RANK –RANKL an nicht-malignen Pathologien

Osteoporose (bei postmenopausalen Frauen)

“Upregulation of RANKL“

“Polymorphism in the OPG gene associated with osteoporotic fractures“

Kardiovaskuläre Erkrankungen

“OPG inhibits and prevents vascular calcification“

“Polymorphism in the promoter of OPG gene is related to vascular morphology“

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

Beteiligung von OPG – RANK –RANKL an nicht-malignen Pathologien

Morbus Paget (herdförmig, pathologisch gesteigerter Knochenumbau)

“Increased expression of RANKL in Paget’s disease of bone“

“OPG-Deficiency associated with juvenile Paget’s disease“  
(idiopathic hyperphosphatasia)

“Mutation of the RANK gene in patients with familial expansile osteolysis“

## Arthritis

“Combined inhibition of TNF, IL-1 and RANKL pathway in TNF-induced arthritis“

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

## Beteiligung von OPG – RANK –RANKL an malignen Pathologien

**Dysregulation** der **Triade** verantwortlich gemacht für:  
Mit malignen Tumoren assoziierte **Osteolyse**  
**Entwicklung** von diesen Tumoren im Knochengewebe

„**RANKL** has already been **detected** in several **tumor cells** and can be considered as a key factor involved in bone remodeling associated with bone metastases.“

Huang L, Cheng YY et al.(2002): *Tumor cells produce receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL) in skeletal metastases.* J Clin Pathol: 55: 877-8.

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

Beteiligung von OPG – RANK –RANKL an malignen Pathologien

## Knochtumor (primär)

“Expression of RANKL by bone tumors“

## Knochenmetastasen

“RANKL expression in skeletal metastases“

“Inhibition of osteoclastogenesis and tumor growth in osteopetrotic mice by OPG“

## Multipl. Myelom

“OPG inhibits osteolysis in multiple myeloma and increases survival in a murine model“

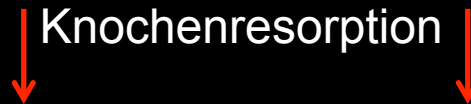
Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

## Aktuelle Therapieansätze

### OPG bei Osteoporose

Blockiert die Differenzierung und Aktivierung von Osteoklasten



*“OPG blocks cancer-induced skeletal destruction through its interaction with RANKL“*

*„The use of recombinant OPG or other molecules able to block the interaction between RANKL and RANK is of major interest“*

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# OPG – RANK - RANKL

Randomized, double blind, placebo-controlled, sequential dose escalation study (0-3mg/kg) OPG

- Bei 52 Frauen mit *postmenopausaler Osteoporose* wurde Effekt einer *einmaligen subkutanen Injektion OPG* auf *Knochenresorption* untersucht –

Resultat:

Effizienz einer einmaligen subkutanen Injektion OPG  
schnelle Reduktion der Knochenresorption

Marker der Knochenresorption: Pyridinoline, Desoxypyridinoline (gesamt/Urin)

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

# VIELEN DANK!

---

Bartl R (2011): *Osteoporose. Prävention - Diagnostik - Therapie*. Thieme. Stuttgart.  
S. 8ff.

Bucay N, Sarosi I et al.(1998): *Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification*

Theoleyre, Sandrine(2004): *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling.*

Rousselle AV, Heyman D(2002): *Osteoclastic acidification during bone resorption*. Bone. 30: 533-40

Simonet WS, Lacey DL et al.(1997): *Osteoprotegerin: a novel secret protein involved in the regulation of bone density.*

ZAIDI, Mone(2018): *Regulation of Skeletal Homeostasis*. Review. *Oxford Academic*.doi:10.1210/er.2018-00050